

# 春小麦赤霉病主效抗性基因的 SSR 分子检测与应用研究

高凤梅,邵立刚,王 岩,李长辉,马 勇,车京玉,张起昌

(黑龙江省农业科学院 克山分院,黑龙江 克山 161606)

**摘要:**为提高黑龙江省农业科学院小麦赤霉病抗性种质创新能力和抗赤育种水平,向生产提供优良的小麦赤霉病抗性新材料,以苏麦 3 号衍生材料为研究对象,以病小穗为评价指标,运用单位花滴注对 2011 年产量鉴定 13 份材料、 $F_6$  18 份材料、 $F_5$  32 份材料进行田间抗赤霉病性鉴定,同时用覆盖苏麦 3 号、在 3BS、6BS 上与小麦抗赤霉病紧密连锁的主效抗性基因相关的 SSR 标记: Xgwm493、Xwmg533、Xgwm389、barc133、barc147、barc102(3BS)和 Xgwm644、Xgwm133、barc101(6BS)对这些材料进行分子检测,以研究其表现型与基因型的关系。结果表明:经田间鉴定出的 25 份抗性材料中 15 份抗性材料在主效抗性位点 3BS 和 6BS 上分别存在相应的抗性基因。说明这 15 份材料具有表现型和基因型的统一。有 10 份抗性材料在 3BS 和 6BS 上均不存在相应抗性基因,20 份感病材料 3BS 和 6BS 上存在相应的抗性基因。

**关键词:**春小麦;赤霉病;主效抗性基因;SSR 分子检测

**中图分类号:** S512.034

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1002-2767(2012)11-0015-06

小麦赤霉病(FHB)是影响世界小麦产量及品质的重要病害,由镰刀菌(*Fusarium*)引起,主要发生于东亚和南美具有温暖潮湿气候的地区,中国是全球小麦赤霉病受害面积最大的国家,每年因赤霉病损失产量约 200 万~300 万 t<sup>[1]</sup>。培育高产抗病品种是防治赤霉病最经济有效的方法,但是多基因控制及环境的影响给筛选抗病品种带来了很大困难<sup>[2]</sup>。抗赤霉病 QTL 的 DNA 标记的发现将加快抗性基因向适应性好的栽培品种中的转移,利用与这些基因紧密连锁的分子标记进行辅助选择,可提高抗赤霉病育种效率,缩短育种年限,具有很大的优越性<sup>[3]</sup>。

分子标记技术用于小麦赤霉病抗性研究早有报道,研究的抗源主要集中在苏麦 3 号及其衍生系上。Waldron 等 RFLP 标记技术以苏麦 3 号/StoaRIL 群体研究赤霉病 QTL,在苏麦 3 号染色体 3B 短臂上发现 1 个 QTL 位点,在 6B 不同区段上发现 2 个 QTL 位点<sup>[4-5]</sup>。Anderson 也利用苏麦 3 号及其衍生系与 2 个不同的感病亲本配制的重组自交系群体,对抗赤 QTL 进行定位,发现存在于 3BS 和 6BS 的抗赤 QTL 在 2 个群体中都

能检测到<sup>[6]</sup>。

该研究拟用覆盖苏麦 3 号与小麦赤霉病抗性主效 QTL 紧密连锁的位于 3BS 和 6BS 上的 SSR 标记: Xgwm493、Xwmg533、Xgwm389、barc133、barc147、barc102 和 Xgwm644、Xgwm133、barc101 来筛选黑龙江省农业科学院克山分院高代育种材料,并验证这些与小麦赤霉病 QTL 紧密连锁的 SSR 标记在高代育种材料中辅助选择的有效性。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试材料为 63 份苏麦 3 号衍生材料(2011 年产量鉴定 13 个株系、 $F_6$  18 个株系、 $F_5$  32 个株系)。种植于黑龙江省农业科学院克山分院试验地内。行长 1 m,行距 0.4 m,穴播。

### 1.2 方法

1.2.1 田间赤霉病抗性鉴定 采用单位花滴注的方法进行接种。小麦花期在从上向下的第 5 个小穗内注射接种 10  $\mu$ L 禾谷镰刀菌孢子悬浮液(1  $\mu$ L 含 100 个孢子),接种以后弥雾保湿 3 d,然后每天喷水 1~2 次,每个株系接种 10~12 穗。接种后 21 d 调查发病情况并统计病小穗率[病小穗率/%=(发病小穗数/总小穗数) $\times$ 100]。根据病小穗率确定发病级数,根据发病级数判定赤霉病抗性(2 级以上为抗病)。

常规病穗分级标准(0~4 级)为 0 级:无病,1

收稿日期:2012-08-20

基金项目:国家小麦现代产业技术体系资助项目(CARS-03)

第一作者简介:高凤梅(1971-),女,山东省寿光市人,硕士,副研究员,从事小麦遗传育种研究。E-mail: Fengmeigao2007@163.com。

级:病部占全穗的 1/4 以下,2 级:病部占全穗 1/4~1/2,3 级:病部占全穗的1/2~3/4,4 级:病部占全穗的 3/4 以上或全穗枯死。

1.2.2 DNA 提取 取成熟籽粒,参照 Saghai-marooft 等<sup>[5]</sup>报道的 CTAB 法进行 DNA 提取。

1.2.3 SSR 分析 PCR 反应在 PE 公司 Gene-AmpPCR System 9600 上进行,反应体积为20 μL。反应混合液包括 1×buffer,1.5 mmol·L<sup>-1</sup> MgCl<sub>2</sub>,2.0 mmol·L<sup>-1</sup> dNTPs,250 μmol·L<sup>-1</sup> SSR 引物,50~100 ng 模板 DNA,1 U Taq 酶。反应程序为:94℃ 2 min,94℃ 1 min,55℃ 1 min,72℃ 1 min,36 个循环,72℃5 min。扩增产物电泳 6%的聚丙烯酰胺胶检测。

1.2.4 数据统计和分析 根据病小穗率测算严重

度,严重度大于 2 的为中抗,株系定义为抗病株系。

## 2 结果与分析

### 2.1 供试材料的抗性鉴定

苏麦 3 号单花滴注接种后 21 d 的病小穗率为 14.3%,产量鉴定有 5 份材料病小穗率低于苏麦 3 号的病小穗率,占产量鉴定材料的 38%;F<sub>6</sub>有 8 份材料病小穗率低于苏麦 3 号的病小穗率,占鉴定材料的 44%;F<sub>5</sub>有 12 份材料病小穗率低于苏麦 3 号的病小穗率,占鉴定材料的 37.5%;由表 1 可知,63 份苏麦 3 号衍生材料中,抗病材料为 25 份,占所鉴定材料的39.7%,感病材料为 38 份,占所鉴定材料的 60.3%。感病材料所占的比重较大。

表 1 2011 年供试材料田间抗病性鉴定结果

Table 1 Field disease-resistance result of the testing materials in 2011

世代 Generation	供试材料/份 Material	抗病材料/份 Resistance material	占百分比/% Percentage	感病材料/份 Susceptible material	占百分比/% Percentage
产量鉴定 Yield testing	13	5	38.5	8	61.5
F <sub>6</sub>	18	8	44.4	10	55.6
F <sub>5</sub>	32	12	37.5	20	62.5
共计 Total	63	25	39.7	38	60.3

### 2.2 抗赤霉病分子标记在小麦产量鉴定材料中的检测

用在 3BS 上与赤霉病主效抗性基因紧密连锁的 Xgwm493、Xwmg533、Xgwm389、barc133、

barc147 和 barc102 标记对 2011 年产量鉴定材料进行检测,结果没有扩增出与苏麦 3 号相同的多肽性条带,说明这 13 份材料不存在这 6 个抗性基因。用 6BS 上的标记 Xgwm644、Xgwm133、

表 2 2011 年产量鉴定材料在 3BS、6BS 位点上的检测结果

Table 2 Testing result of yield testing materials on 3BS and 6BS loci in 2011

区号 Plot number	抗性 Resistance	3BS						6BS		
		Xgwm 493	Xwmg 533	Xgwm 389	barc 133	barc 147	barc 102	Xgwm 644	Xgwm 133	barc 101
4	R	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15	S	—	—	—	—	—	—	—	—	—
16	S	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20	R	—	—	—	—	—	—	—	—	—
291	S	—	—	—	—	—	—	—	—	—
377	S	—	—	—	—	—	—	+	—	+
440	S	—	—	—	—	—	—	—	—	—
441	S	—	—	—	—	—	—	—	—	+
6	S	—	—	—	—	—	—	—	—	—

续表 2

Continuing Table 2

区号 Plot number	抗性 Resistance	3BS						6BS		
		Xgwm	Xwmg	Xgwm	barc	barc	barc	Xgwm	Xgwm	barc
		493	533	389	133	147	102	644	133	101
23	S	—	—	—	—	—	—	—	—	—
192	R	—	—	—	—	—	—	—	—	—
332	R	—	—	—	—	—	—	+	—	+
516	R	—	—	—	—	—	—	—	—	—

注:含有抗性标记的为+;不含此抗性标记的为-。下同。

Note:Containing resistance marker is +;Non-containing resistance marker is -. The same below.

barc101 进行检测,结果表明:Xgwm644 标记扩  
增出 2 份与苏麦 3 号相同的多肽性条带,说明这  
2 份材料存在 Xgwm644 抗赤霉病基因;Xg-  
wm133 标记没有扩增出与苏麦 3 号相同的多肽  
性条带,说明这 8 份材料均不存在 Xgwm133 抗  
赤霉病基因;barc101 标记扩增出 3 份与苏麦 3 号  
相同的多肽性条带,说明这 3 份材料存在 barc101

抗赤霉病基因(见表 2)。

5 份抗性材料中有 1 份能检测到抗性标记,  
选择的有效率为 20%;2 份材料在 6BS 上检测到  
抗性标记,田间表现为感病。

2.3 抗赤霉病分子标记在小麦 F<sub>6</sub> 育种材料中的  
检测

用在 3BS 上与赤霉病主效抗性基因紧密连

表 3 2011 年 F<sub>6</sub> 材料在 3BS、6BS 位点上的检测结果

Table 3 Testing result of F<sub>6</sub> generation testing materials on 3BS and 6BS loci in 2011

区号 Plot number	抗性 Resistance	3BS						6BS		
		Xgwm	Xwmg	Xgwm	barc	barc	barc	Xgwm	Xgwm	barc
		493	533	389	133	147	102	644	133	101
237	S	+	+	+	+	+	+	—	—	+
238	S	+	+	+	+	—	+	+	—	—
274	R	—	—		—	—	—	+	—	—
275	S	—	—		—	—	—	—	—	—
276	S	—	—		—	—	—	—	—	—
277	S	—	—		—	—	—	—	—	—
278	S	—	—		—	—	—	—	—	—
279	S	—	—	+	—	—	—	—	—	—
281	R	—	—		—	—	—	—	—	—
282	S	—	—	+	—	—	—	—	—	—
283	R	—	—	+	—	—	—	—	—	—
284	R	—	—	+	—	—	—	—	—	—
285	R	—	—	+	—	—	—	—	—	—
286	S	—	—	+	—	—	—	—	—	—
801	S	—	—		—	—	—	—	—	—
802	R	—	—	—	—	—	—	—	—	—
803	R	—	—	—	—	—	—	—	—	+
804	R	—	—	—	—	—	—	—	—	+

锁的 Xgwm493、Xwmg533、Xgwm389、barc133、barc147 和 barc1026 标记对 F<sub>5</sub> 18 份材料分别进行检测（见表 3），结果表明：用 Xgwm493、Xwmg533、barc133、barc102 检测，材料 237、238 分别扩增出与苏麦 3 号相同的多肽性条带，说明这 2 份材料存在这 4 个抗性基因；用 Xgwm389 检测，有 8 份材料扩增出与苏麦 3 号相同的多肽性条带，说明这 8 份材料存在此抗性基因；用 barc147 检测，只有 237 扩增出与苏麦 3 号相同的多肽性条带，说明其存在此抗性基因。用 6BS 上的标记 Xgwm644、Xgwm133、barc101 分别进行检测，结果显示：用 Xgwm644 检测，238、274 两份

材料分别扩增出与苏麦 3 号相同的多肽性条带，说明这 2 份材料存在抗赤性基因；用 Xgwm133 检测，18 份材料中没有扩增出与苏麦 3 号相同的多肽性条带，说明这 18 份材料均不存在这几个抗性基因；用 barc101 检测，237、803、804 扩增出与苏麦 3 号相同的多肽性条带，说明这 3 份材料存在此抗性基因。

8 份抗性材料中有 6 份分别在 3BS、6BS 上能检测到相应抗性标记，选择的有效率为 75%；5 份分别在 3BS、6BS 上检测到抗性标记，田间表现为感病。

表 4 2011 年 F<sub>5</sub> 材料在 3BS、6BS 位点上的检测结果

Table 4 Testing result of F<sub>5</sub> generation testing materials on 3BS and 6BS loci in 2011

区号 Plot number	抗性 Resistance	3BS						6BS		
		Xgwm	Xwmg	Xgwm	barc	barc	barc	Xgwm	Xgwm	barc
		493	533	389	133	147	102	644	133	101
385	S	—	—		—	—	—	+	—	+
386	R	—	—		—	—	—	+	—	+
387	R	—	—		—	—	—	+	—	+
388	R	—	—		—	—	—	+	—	+
389	S	—	—		—	—	—	—	—	—
390	R	—	—		—	—	—	—	—	—
391	S	—	—		—	—	—	—	—	—
392	R	—	—		—	—	—	—	—	—
393	R	—	—		—	—	—	+	—	—
395	R	—	—		—	—	—	—	—	—
396	R	—	—	—	—	—	—	—	—	—
397	S	—	—		—	—	—	—	—	—
398	S	—	—		—	—	—	—	—	—
399	S	—	—	—	—	—	—	+	—	—
401	S	—	+	+	+	+	+	+	—	—
402	S	—	+	+	+	+	+	+	—	+
403	S	—	+	+	+	+	+	+	—	+
404	R	—	+	+	+	+	—	+	—	+
405	R	—	+	+	+	+	—	+	—	+
407	S	—	+	+	+	+	—	+	—	+
408	S	—	+	+	+	+	—	+	—	+
409	S	—	+	+	+	+	—	+	—	+
410	S	—		—	—	—	+	+	—	+

续表 4

Continuing Table 4

区号 Plot number	抗性 Resistance	3BS						6BS		
		Xgwm	Xwmg	Xgwm	barc	barc	barc	Xgwm	Xgwm	barc
		493	533	389	133	147	102	644	133	101
411	S	—		—	—	—	—	+	—	—
412	S	—	—		—	—	—	—	—	—
413	S	—	—		—	—	+	+	—	—
414	HR	—	—		—	—	—	+	+	—
415	S	—	—		—	—	—	+	+	—
432	R	—	—		—	+	+	—	—	—
433	S	—	—	+	—	—	—	—	—	—
1449	S	—	—		—	—	—	—	—	—
1450	S	—	—		—	—	—	—	—	—

2.4 抗赤霉病分子标记在小麦 F<sub>5</sub> 育种材料中的检测

用在 3BS 上与赤霉病抗性连锁的 Xgwm493、Xwmg533、Xgwm389、barc133、barc147 和 barc102 标记对 F<sub>5</sub> 32 份材料分别进行检测(见表 4),结果表明:Xgwm493 没有扩增出与苏麦 3 号相同的多肽性条带,表明 32 份材料中不存在 Xgwm493 抗性基因;Xwmg533、barc133 中有 8 份材料扩增出与苏麦 3 号相同的多肽性条带,说明这 8 份材料存在 Xwmg533、barc133 抗性基因;Xgwm389、barc147 中有 9 份材料分别扩增出与苏麦 3 号相同的多肽性条带,说明这 9 份材料存在 Xgwm389、barc147 抗性基因;barc102 中有 6 份材料扩增出与苏麦 3 号相同的多肽性条带,说明这 6 份材料存在此抗赤霉病基因。

12 份抗性材料中有 8 份分别在 3BS、6BS 上能检测到相应抗性标记,选择的有效率为 66.7%;13 份材料分别在 3BS、6BS 上检测到相应抗性标记,田间表现为感病。

3 结论与讨论

小麦赤霉病抗性是受环境影响较大的数量性,对用于分子标记研究的表型鉴定应在相对比较稳定一致的环境中,采用年度间相关系数较高的抗性材料。近年来,对抗源苏麦 3 号及其衍生系的研究已有许多报道<sup>[6,11-12]</sup>,认为苏麦 3 号抗病性是由 1~2 对主效抗赤基因及几处微效基因控制。该试验应用覆盖苏麦 3 号与小麦赤霉病抗性主效 QTL 紧密连锁的位于 3BS 和 6BS 上的

SSR 标记对不同世代的材料进行检测结果表明:田间鉴定出的抗病材料中有 15 份材料在 3BS、6BS 上能检测到相应抗性标记,说明存在相应的抗性基因,表现出表现型和基因型的统一,其抗性具有相对的稳定性,可以作为生产材料或作为抗性亲本在育种中加以利用;经田间鉴定出的 10 份抗性材料均在 3BS、6BS 上未能检测到相应抗性标记,说明这 10 份材料中不存在相应的主效抗性基因。但在田间表现为抗性,是因为小麦赤霉病是由主效基因+微效基因控制的数量遗传性状,虽然主效基因在遗传中起主要作用,但微效基因的累加达到一定的量时,同样起到主效基因的作用;经田间鉴定出的 38 份感病材料中有 20 份材料在 3BS、6BS 上检测到相应的抗性标记,表明这 20 份材料中也存在相应的抗性基因,只是由于基因表达过程中受到抑制或基因沉默亦或效应较小等原因在遗传中没有表达而已。在不同抗赤品种中,可能分布着不同的抗赤 QTLs,借助于紧密连锁的分子标记可望有效地聚合这些 QTLs,培育具有持久稳定的抗赤品种。

参考文献:

[1] 陆维中,程顺和,王裕中.小麦赤霉病研究[M]北京:科学技术出版社,2001:114-115.

[2] 张勇,张佰桥,高德荣,等.小麦抗病新材料 S42 抗赤霉病性的主基因+多基因遗传分析[J].江苏农业学报,2005,21(4):272-276.

[3] 高力,陈力,周立人,等.小麦品种望水白的抗赤霉病性遗传分析[J].麦类作物学报,2005,25(5):5-9.

[4] Zhang Xu, Zhou Miaoping, Ren Lijuan, et al. Molecular characterization of Fusariumhead blight resistance from

- wheat variety Wangshuibai[J]. Euphytica, 2004, 139: 59-64.
- [5] 余桂红, 任丽娟, 马鸿翔, 等. 分子标记在小麦抗赤霉病辅助育种中的应用[J]. 江苏农业学报, 2006, 22(3): 189-191.
- [6] Anderson J A, Stack R W, Liu S, et al. DNA markers for Fusarium head blight resistance QTL in two wheat populations[J]. Theor Appl Genet, 2001, 102: 1164-1168.
- [7] 周森平, 任丽娟, 张旭, 等. 3B 染色体短臂小麦赤霉病抗性主效 QTL 的分析[J]. 遗传学报, 2003, 30(6): 571-576.
- [8] 盖钧镒, 章元明, 王建康. 植物数量性状遗传体系[M]. 北京: 科学出版社, 2003: 120-126.
- [9] 林一波, 杨竹平, 吴兆苏. 不同地理来源抗赤霉病小麦品种的抗性遗传分析[J]. 上海农业学报, 1992, 8(1): 31-36.
- [10] Zhou W C, Kolb F L, Bai G H, et al. Genetic analysis of scab resistance QTL in wheat with microsatellite and AFLP markers[J]. Genome, 2002, 45: 719-727.
- [11] Buerstmayr H, Lemmens M, Hartl L, et al. Molecular mapping of QTLs for Fusarium head blight resistance in spring wheat I. Resistance to fungal spread (Type II resistance)[J]. Theor Appl Genet, 2002, 104: 84-91.
- [12] Shen X, Zhou M, Lu W, et al. Detection of Fusarium head blight resistance QTL in a wheat population using bulked segregant analysis[J]. Theor Appl Genet, 2003, 106: 1041-1047.

## SSR Molecular Characterization and Applied Research of Wheat Scab Major Resistance Genes in Spring Wheat

GAO Feng-mei, SHAO Li-gang, WANG Yan, LI Chang-hui, MA Yong, CHE Jing-yu, ZHANG Qi-chang  
(Keshan Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Keshan, Heilongjiang 161606)

**Abstract:** The Sumai No. 3 derived materials were used as the research materials, the disease-spikelet was regarded as evaluation index, the unit flower drip-method was applied to evaluate 13 materials of production evaluation nursery, 18 materials of  $F_5$  generation and 32 materials of  $F_5$  generation from 2011 year for field scab resistance evaluation, and using the cover Sumai No. 3, major genes of close linkage scab-resistance on 3BS, 6B and their SSR markers, namely, Xgwm493, Xwmg533, Xgwm389, barc133, barc147, barc102 (3BS), Xgwm644, Xgwm133 and barc101 (6BS), which were used to identify these materials with SSR molecular characterization, the relationship of phenotype and genotype was studied. The results showed that the 15 resistant materials were carried with corresponding resistance genes on 3BS and 6Bs in 25 resistant materials in field scab resistance evaluation, the 15 resistant materials performed unification of phenotype and genotype, the 10 resistant materials were not carried with the corresponding resistance genes on 3BS and 6BS, the 18 susceptible materials were carried with the corresponding resistance genes on 3BS and 6BS.

**Key words:** spring wheat; wheat scab; major resistance gene; SSR molecular characterization.

(该文作者还有刘宁涛、邹东月、王志坤, 单位同第一作者; 孙连发, 单位为黑龙江省农业科学院作物育种研究所)

### 《农药》杂志征订启事

《农药》杂志是由沈阳化工研究院有限公司主办的全国性综合农药技术刊物, 1958 年创刊, 月刊, 中文核心期刊, 中国科技核心期刊, 美国《化学文摘》信息源期刊, 国内外公开发行。

《农药》杂志遵循“研究推广农药技术, 推动农药科技进步, 提高农业环保意识, 促进农业可持续性发展”的办刊宗旨, 本着普及与提高相结合原则, 报道农药科研、生产、加工、分析、应用等方面的新成果、新技术、新知识、新信息、新动态、新经验以及农药生产过程的三废治理及副产物的综合利用, 国内外农药新品种、新剂型和新用法, 国内病虫害发生趋势, 农药药效试验、田间应用、使用技术改进及毒性、作用机制、残留动态等内容。

《农药》杂志多年来深受农药科研、生产人员以及植保工作者的厚爱, 成为各级农药研究、生产、销售、应用部门的知心朋友。荣获全国石油和化工行业优秀报刊一等奖。

欢迎订阅, 欢迎刊登广告, 欢迎投稿!

全国各地邮局订阅, 邮发代号 8-60, 每册定价 20.00 元, 全年定价 240.00 元(如错过订期, 可随时向编辑部订购)。

地址: 沈阳市铁西区沈辽东路 8 号《农药》编辑部 邮编: 110021

电话(传真): 024-85869187 E-mail: nongyao@sinochem.com

订阅联系人: 白洪华 广告联系人: 张敏恒

开户行: 浦发银行沈阳铁西支行 户名: 沈阳化工研究院有限公司 帐号: 71070155260000181